

Bencyclane — a new aspect of the mechanism of action in patients with peripheral arterial occlusive disease. Open-label, prospective, randomized trial

Nowy aspekt mechanizmu działania bencyklanu u chorych na miażdżycę tętnic kończyn dolnych. Otwarte, prospektywne, randomizowane badanie kliniczne

Krzysztof Bieroń, Elżbieta Kostka-Trąbka, Dorota Starzyk, Aleksandra Goszcz, Lilia Grodzińska, Ryszard Korbut

Department of Clinical Pharmacology, Jagiellonian University Medical College, Cracow, Poland
(Zakład Farmakologii Klinicznej Katedry Farmakologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie)

Abstract

Background: Bencyclane provides a favourable therapeutic effect in patients with peripheral vascular disease; however, its mechanism of action has not been completely explained. We have attempted to clarify bencyclane's mechanism of action in patients with peripheral arterial occlusive disease (PAOD), taking into particular consideration antiplatelet and fibrinolytic activity of the drug, on the basis of particular clinical and laboratory parameters.

Materials and methods. The study was performed on 36 patients with PAOD according to Fontaine stage II, aged 43–69 years (mean 56 years). We used patients receiving pentoxifylline as a control group. Patients were randomised into two groups of 18 subjects each, based on date of birth. All patients in group A (bencyclane) received 200 mg of bencyclane in 250 ml of normal saline as an i.v. infusion in the morning and 200 mg of the drug orally in the evening for 14 days. In a control group B (pentoxifylline) patients were given 300 mg of pentoxifylline in 250 ml of normal saline as an i.v. infusion in the morning and 400 mg of pentoxifylline orally in the evening for 14 days.

Clinical examinations were performed before the start and at the end of the therapy and laboratory estimations were made before the start of the therapy and after finishing a 2-hour drug infusion on the first and last days of treatment.

Results. In comparison with pentoxifylline, bencyclane is characterized by stronger antiplatelet, fibrinolytic and antiaggregatory activity, with comparable vasodilating effects and to a lesser extent it influences erythrocyte deformability.

Conclusion. Antiplatelet and fibrinolytic activity, as well as lowering the PAI-1 level and rising concentrations of t-PA and 6-keto PGF_{1α}, may suggest that bencyclane's mechanism of action is endothelial-derived.

Key words: peripheral arterial occlusive disease, bencyclane, pentoxifylline, vascular endothelium, prostacycline, nitric oxide, tissue plasminogen activator

Address for correspondence (Adres do korespondencji):

Dr med. Krzysztof Bieroń, Katedra Farmakologii CMUJ
ul. Grzegorzewska 16, 31–351 Kraków
tel. (+48 12) 421 11 68, 428 47 40, fax: (+48 12) 421 72 17

Streszczenie

Wstęp. Bencyklan wywiera korzystny efekt terapeutyczny u pacjentów ze schorzeniami naczyń obwodowych, jednak mechanizmu jego działania całkowicie nie wyjaśniono. Podjęto próbę wyjaśnienia mechanizmu działania bency克兰u na podstawie wybranych parametrów badań klinicznych i laboratoryjnych u chorych na miażdżycę tętnic kończyn dolnych (PAOD), ze szczególnym uwzględnieniem jego działania przeciw płytkowego i fibrynolitycznego.

Materiał i metody. Grupę porównawczą stanowili pacjenci otrzymujący pentoksylinę. Badaniem objęto grupę 36 chorych na PAOD w II stadium według klasyfikacji Fontaine'a w wieku 43–69 lat (śr. 56 lat). Pacjentów podzielono losowo na 2 grupy 18-osobowe, uwzględniając datę urodzenia. W grupie stosującej bencyklan chorzy otrzymywali w godzinach porannych 200 mg preparatu w 250 ml 0,9-procentowego NaCl w kroplowej infuzji dożylniej oraz 200 mg doustnie w godzinach wieczornych przez 14 dni. W grupie stosującej pentoksylinę pacjenci otrzymywali 300 mg pentoksyliny w 250 ml 0,9-procentowego NaCl w kroplowej infuzji dożylniej w godzinach porannych oraz 400 mg pentoksyliny w godzinach wieczornych przez 14 dni. Badania kliniczne wykonywano przed rozpoczęciem leczenia oraz po jego zakończeniu. Badania laboratoryjne przeprowadzano przed rozpoczęciem terapii i po zakończonej 2-godzinnej dożylniej infuzji leków w pierwszym i ostatnim dniu leczenia.

Wyniki. Bencyklan w porównaniu z pentoksyliną wykazywał silniejsze działanie przeciw płytkowe hamujące agregację krwinek czerwonych i fibrynolityczne przy podobnym działaniu naczyniorozszerzającym, natomiast w mniejszym stopniu wpływał na odkształcalność krwinek czerwonych.

Wniosek. Działania przeciw płytkowe i fibrynolityczne, obniżenie stężenia PAI-1 oraz wzrost stężeń t-PA i 6-keto PGF_{1α} mogą sugerować śródbłonkowopochodny mechanizm działania bencyklanu.

Słowa kluczowe: miażdżycza tętnic kończyn dolnych, bencyklan, pentoksylina, śródbłonek naczyniowy, prostacyklina, tlenek azotu, tkankowy aktywator plazminogenu

Introduction

Drugs used in the treatment of peripheral arterial occlusive disease (PAOD) should improve tissue perfusion and inhibit progression of atherosclerotic changes. In atherosclerosis there is increased platelet activation and decreased activity of the fibrinolytic pathway, which in turn enhances atherosclerosis progression and increases the possibility of atherothrombotic complications. That is why treating this disease with antiplatelet and fibrinolytic drugs is fully justified.

Bencyclane exerts a favourable therapeutic effect in patients with peripheral vascular disease [1–5]; however, its mechanism of action has not been completely clarified. The main features underscored were: vasodilating effect [6–7], blocking calcium ions influx into the cell [8–9], locally anaesthetising action by blocking sodium channels [10–11], papaverin-like effects [12] and quite unspecified influence on cellular metabolism. In the course of bencyclane therapy, an improvement of microcirculation was observed too as well as an increase in rest blood flow, which can be partially attributed to improved rheological parameters [13]. For quite some time now, attempts have been made to elucidate the favourable effects of bencyclane on patients with PAOD, but neither *in vitro* nor *in vivo* experiments have been successful. Consequently, we have decided to explain

Wstęp

Stosowanie leków w miażdżycy tętnic kończyn dolnych (PAOD) powinno poprawiać ukrwienie tkanek oraz hamować progresję zmian miażdżycowych. U chorych z miażdżycą występuje wzmożona aktywacja płytek krwi i zmniejszenie aktywności układu fibrynolitycznego, co nasila progresję zmian miażdżycowych i zwiększa możliwość wystąpienia powikłań zakrzepowo-zatorowych, dlatego stosowanie u tych pacjentów leków o działaniu przeciw płytkowym i fibrynolitycznym jest w pełni uzasadnione.

Terapia bencyklanem jest korzystna u pacjentów ze schorzeniami naczyń obwodowych, wydłużając znacząco dystans bezbólowy chodzenia przestankowego [1–5]. Jednak mechanizmu tego działania dokładnie nie wyjaśniono. Podkreśla się głównie naczyniorozszerzające działanie bencyklanu [6, 7], blokujące napływ jonów wapnia do wnętrza komórki [8, 9], znieczulające miejscowo poprzez blokadę kanałów sodowych [10, 11], papawerynopodobne [12] oraz nie w pełni wyjaśniony wpływ na metabolizm komórkowy. Obserwowano również poprawę stanu mikrokrążenia i wzrost przepływu spoczynkowego w trakcie terapii bencyklanem, co przypisywano częściowo poprawie parametrów reologicznych krwi [13]. Od dawna próbowano wyjaśnić mechanizm korzystnego działania bencyklanu u chorych

bencyclane's mechanism of action paying particular attention to the antiplatelet and fibrinolytic activity of the drug, on the basis of particular clinical and laboratory parameters.

As a control group, we used patients receiving pentoxifylline — a drug of known efficacy in peripheral vascular disease and most widely recommended by Trans-Atlantic Inter-Society Consensus (TASC) [14].

The main purpose of the study was to explain the bencyclane mechanism of action in patients with PAOD on the basis of particular clinical and laboratory parameters. The secondary aim of the study was to compare the clinical efficacy of bencyclane in these patients with pentoxifylline, based on the evaluation of the above mentioned parameters.

Materials and methods

The study was performed on 36 patients with PAOD according to Fontaine stage II, aged 43–69 years (mean 56 years). Patients were qualified on the basis of clinical examination and additional clinical tests (pain-free walking distance < 300 m, ankle-brachial index below 1.0 in at least one limb).

Patients with kidney or liver failure were excluded from the study as well as those who had to be given drugs that could influence the parameters evaluated during the study because of coexistent diseases.

Signing an informed consent form by each of participants was a precondition for taking part in the study which was conducted in accordance with the Helsinki Convention and after obtaining consent of the Ethical Committee for Clinical Research at Jagiellonian University's Collegium Medicum.

During a 14-day period, the patients under observation were hospitalised in our Clinical Pharmacology department and were under constant medical supervision.

The patients were randomised into two groups of 18 subjects each, based on their date of birth (odd day — group A, i.e. patients receiving bencyclane, even day — group B, i.e. patients receiving pentoxifylline). At baseline there were no statistically significant differences between both groups regarding age, as well as basic laboratory parameters (blood morphology, biochemical examination), clinical tests (pain-free and maximum walking distance, duration of pain in ischaemic limbs after walking test, ankle-brachial index, blood flow at rest) and laboratory parameters (spontaneous, ADP- and collagen-induced platelet aggregation, plasma fibrinolytic activity, erythrocyte aggregation and deformability).

All of the subjects in group A were given 200 mg of bencyclane in 250 ml of normal saline as an *i.v.* infusion in the morning and 200 mg of the drug orally in the

na PAOD, jednak wyniki badań doświadczalnych *in vitro* i *in vivo* nie rozwiązały tego problemu, dlatego celem niniejszej pracy była próba wyjaśnienia mechanizmu działania bencyklanu na podstawie wybranych parametrów badań klinicznych i laboratoryjnych u chorych na PAOD, ze szczególnym uwzględnieniem jego działania przeciw-płytkowego i fibrynolitycznego.

Grupę porównawczą stanowili chorzy otrzymujący pentoksyfilinę — lek o uznanej skuteczności w schorzeniach naczyń obwodowych rekomendowany przez TASC [14].

Zasadniczym celem niniejszej pracy była próba wyjaśnienia mechanizmu działania bencyklanu na podstawie wybranych parametrów badań klinicznych i laboratoryjnych u chorych na miażdżycę tętnic kończyn dolnych. Drugorzędnym celem było porównanie skuteczności klinicznej bencyklanu z pentoksyfiliną u chorych na podstawie oceny tych parametrów.

Materiał i metody

Badaniem objęto grupę 36 chorych na miażdżycę tętnic kończyn dolnych w II stadium według klasyfikacji Fontaine'a w wieku 43–69 lat (śr. 56 lat).

Kwalifikacji chorych dokonano na podstawie badania podmiotowego i przedmiotowego oraz dodatkowych prób klinicznych (dystans bezbólowy < 300 m, wskaźnik kostkowo-ramienny poniżej 1,0 przynajmniej w jednej kończynie).

Z badania wykluczono pacjentów z niewydolnością nerek, wątroby oraz chorych, którzy ze względu na współistniejące patologie musieli otrzymywać leki mogące wpływać na oceniane w trakcie badania parametry.

Warunkiem udziału w badaniu było pisemne wyrażenie świadomej zgody przez każdego chorego. Obserwację przeprowadzono zgodnie z zasadami Konwencji Helsińskiej i po uzyskaniu zgody Komisji Etycznej CM UJ dla badań klinicznych. W trakcie 14-dniowej próby klinicznej chorych hospitalizowano w Oddziale Farmakologii Klinicznej, gdzie znajdowali się pod stałą kontrolą lekarską.

Pacjentów podzielono losowo na 2 grupy 18-osobowe: grupa A — chorzy otrzymujący bencyklan oraz grupa B — chorzy otrzymujący pentoksyfilinę.

Wyjściowo obie badane grupy w statystycznie znaczący sposób nie różniły się pod względem wieku ani w zakresie podstawowych badań laboratoryjnych (morfologia, badania biochemiczne) oraz stosowanych testów klinicznych (dystans bezbólowy i maksymalny, czas trwania bólu w niedokrwionych kończynach po próbie marszowej, wskaźnik kostkowo-ramienny (ABI), spoczynkowy przepływ krwi) i laboratoryjnych (agregacja płytek krwi samoistna, wywołana ADP i kolagenem, ak-

evening for fourteen days. In a control group B, patients were given 300 mg of pentoxifylline in 250 ml of normal saline as an i.v. infusion in the morning and 400 mg of pentoxifylline orally in the evening for 14 days.

The study design (hospitalization and constant control) allowed us to preclude patients from using other drugs that could influence the results of tests and analyses while at the same time provided high standards of patient safety.

Methods of evaluating clinical parameters

Clinical examinations were performed before the start of therapy and after finishing the treatment, and encompassed:

- pain-free (until first signs of pain were felt in the ischaemic limbs) and maximum (until the pain precluded further walking) walking distance on a runway with 11.25° inclination at a speed of 4 km/h was measured twice at a 30-minute interval and the result was given as the mean value of both measurements expressed in metres;
- the duration of pain in the ischaemic limbs after walking a maximum distance at the trial was measured in seconds and determined as the moment of total waning of pain;
- ankle-brachial index (ABI);
- blood flow at rest in the ischaemic limbs was measured using a pletysmograph with mercury loop. Readings of two subsequent measurements were calculated and the result given as the mean value of blood flow in mL/dL of tissue/min.

Laboratory methods

Laboratory tests were performed before starting the treatment and after finishing a 2-hour infusion of drugs during the first and the last 14 days of therapy before and after drug infusions, and encompassed:

- euglobulin clot lysis time (ECLT) according to von Kaulla [15]; results expressed as time of euglobulin clot lysis in minutes; In case of confirmed activation of fibrinolytic system we determined tissue plasminogen activator (t-PA) and its inhibitor's (PAI-1) level in the plasma using ELISA technique according to instructions enclosed in commercial TintELize set. We also determined the level of 6-keto-prostaglandin F1 α (6-keto PGF_{1 α}) using ELISA technique according to instructions enclosed in commercial Cayman set;
- spontaneous platelet aggregation (expressed as PAR) using Wu & Hoak method [16];
- ADP- and collagen-induced platelet aggregation as in Born's method [17]. For ADP and collagen we calculated EC30 i.e. such concentrations of pro-

tywność fibrynolityczna osocza, agregacja erytrocytów, odkształcalność krwinek czerwonych).

W grupie A chorzy w godzinach porannych otrzymywali 200 mg bencyklanu w 250 ml 0,9-procentowego NaCl w kroplowej infuzji dożylniej oraz 200 mg doustnie w godzinach wieczornych przez 14 dni.

W grupie B chorzy otrzymywali 300 mg pentoksyfili w 250 ml 0,9-procentowego NaCl w kroplowej infuzji dożylniej w godzinach porannych oraz 400 mg pentoksyfili doustnie w godzinach wieczornych przez 14 dni.

Zastosowany plan badania (hospitalizacja, stała kontrola) pozwolił wyeliminować stosowanie przez pacjentów innych leków mogących wpływać na wyniki badań i analiz przy zachowaniu wysokich standardów bezpieczeństwa chorych.

Metody oceny parametrów klinicznych

Badania kliniczne wykonywano przed rozpoczęciem leczenia oraz po jego zakończeniu. Obejmowały one:

- dystans bezbólowy (do pierwszych objawów bólu w niedokrwionych kończynach) i maksymalny (do chwili, gdy ból uniemożliwiał dalszy marsz) na bieżni o kącie nachylenia 11,25° przy prędkości 4 km/godz. mierzony 2-krotnie w odstępach 30-minutowych, podając wynik jako średnią obu pomiarów wyrażoną w metrach;
- czas trwania bólu w niedokrwionych kończynach po przejściu maksymalnego odcinka drogi w próbie marszowej mierzony w s; określał on moment całkowitego ustąpienia bólu;
- wskaźnik kostkowo-ramienny (ABI);
- spoczynkowy przepływ krwi w niedokrwionych kończynach mierzony przy użyciu pletyzmografu z pętlą rtęciową; wynik odczytywano z 2 kolejnych pomiarów i podawano jako średnią w ml przepływu krwi/dl tkanki/min.

Metody laboratoryjne

Badania laboratoryjne wykonywano przed rozpoczęciem terapii i po zakończonej 2-godzinnej dożylniej infuzji leków w 1. i w 14. dniu leczenia przed podaniem badanych leków oraz po infuzji. Obejmowały one:

- badanie aktywności fibrynolitycznej osocza (ECLT) według metody von Kaulla [15] wyrażonej jako czas lizy skrzepu euglobulinowego w minutach; w przypadku stwierdzonej aktywacji układu fibrynolitycznego oznaczano stężenie tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA) w osoczu i jego inhibitora (PAI-1) techniką ELISA zgodnie z instrukcją dołączoną do popularnego zestawu TintELize oraz stężenie 6-keto-prostaglandyny F1 α (6-keto) PGF_{1 α} techniką ELISA zgodnie z instrukcją dołączoną do komercyjnego zestawu Cayman;

- aggregatory factors so as to cause 30% of the maximum 100% aggregation measured in comparison with platelet-poor plasma (PPP). The value of EC30 was taken as the proaggregatory threshold, because for ADP this value corresponds to the real threshold proaggregatory concentration that causes irreversible two-phase aggregation;
- erythrocyte deformability was measured using a laser diffractometer that, as a percentage, measures erythrocyte length increment under shear stress forces imposed on it. Such a measured parameter is called the deformability index (DI);
- erythrocyte aggregation was measured using an infrared-sensitive aggregometer. This device measures the mean aggregation value and presents it as a numerical result in arbitrary units — the mean extent of aggregation (MEA).

Statistical analysis

Results were statistically elaborated using t-paired Student test and expressed as mean \pm standard deviation ($M \pm SD$). For statistically significant difference between means, we have assumed the level of significance to be $p < 0.05$.

Results

In both groups [A (bencyclane) and B (pentoxifylline)] basic laboratory parameters (blood morphology, cholesterol and its fractions, glucose, AspAT, AlAT, urea, creatinine and fibrinogen) did not significantly differ before or after the 14-day clinical trial.

Results of clinical tests

Pain-free walking distance after the treatment period was significantly longer in both groups, by 46% in group A and by 54% in group B, while the improvement on bencyclane showed greater statistical significance ($p < 0.01$) than on pentoxifylline ($p < 0.05$).

For maximum walking distance, the improvement was 44% in group A and 51% in group B respectively, with the same statistical significance.

Duration of pain in the ischaemic limbs after a walking test showed a statistically significant ($p < 0.01$) shortening in both groups, by 22%.

Ankle-brachial index (ABI) showed statistically significant ($p < 0.05$) increase in the more ischaemic limb (mil) in group A (bencyclane) by 25% (0.59 ± 0.14 vs. 0.74 ± 0.18) and by 16% in the less ischaemic limb (lil) (0.66 ± 0.22 vs. 0.77 ± 0.21) in group B (pentoxifylline) by 24% (0.62 ± 0.15 vs. 0.77 ± 0.2) and by 14% (0.7 ± 0.22 vs. 0.8 ± 0.21) respectively with the same statistical significance ($p < 0.05$) (Figure 1).

- spontaniczną agregację płytek krwi (wyrażoną jako PAR) metodą Wu i Hoaka [16];
- agregację płytek krwi wywołaną ADP i kolagenem wg metody Borna [17]. Dla ADP i kolagenu obliczano EC30, czyli takie stężenia czynników proagregacyjnych, które powodowały 30% maksymalnej 100-procentowej agregacji, mierzonej w stosunku do osocza ubogopłytkowego (PPP). Wartość EC30 przyjmowano jako próg agregacyjny, ponieważ wartość ta dla ADP odpowiadała rzeczywistemu stężeniu progowemu powodującemu nieodwracalną 2-fazową agregację;
- odkształcalność erytrocytów za pomocą dyfraktometru laserowego mierzącego w procentach przyrost długości krwinki pod wpływem nałożonych na nią sił napięcia ścinającego (*shear stress*). Zmierzony w ten sposób parametr to wskaźnik odkształcalności (DI);
- agregację krwinek czerwonych badaną za pomocą aggregometru czułego na podczerwień. Aparat dokonuje pomiaru średniej wartości agregacji i przedstawia ją w formie liczbowego wyniku w arbitralnych jednostkach (MEA).

Analiza statystyczna

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie z zastosowaniem testu t-Studenta dla zmiennych powiązanych i wyrażone jako średnia \pm odchylenie standardowe ($mean \pm SD$). Za znamiennej statystycznie różnicę między średnimi przyjęto znamienność na poziomie $p < 0,05$.

Wyniki

W obu badanych grupach (A — chorzy stosujący bencyklan i B — pacjenci przyjmujący pentoksylinę) w podstawowych badaniach laboratoryjnych (morfologia krwi, stężenie cholesterolu i jego frakcji, stężenie glukozy, Aspat, Alat, stężenie mocznika, kreatyniny, fibrynogenu) nie wykazano istotnych różnic przed zakończeniem 14-dniowej próby klinicznej i po jej zakończeniu.

Wyniki badań klinicznych

Dystans bezbólowy wydłużał się statystycznie znamienne w obu badanych grupach — o 46% w grupie bencyklanu i o 54% w grupie pentoksyliny, przy czym poprawa po zastosowaniu bencyklanu wykazywała większą znamienność statystyczną ($p < 0,01$) niż po podaniu pentoksyliny ($p < 0,05$). Dla dystansu maksymalnego poprawa wynosiła odpowiednio: 44% (w grupie stosujących bencyklan) i 51% (w grupie przyjmujących pentoksylinę) przy tej samej znamienności statystycznej.

Czas trwania bólu w niedokrwionych kończynach po próbie marszowej statystycznie znamienne ($p < 0,01$) zmniejszył się o 22% w obu grupach.

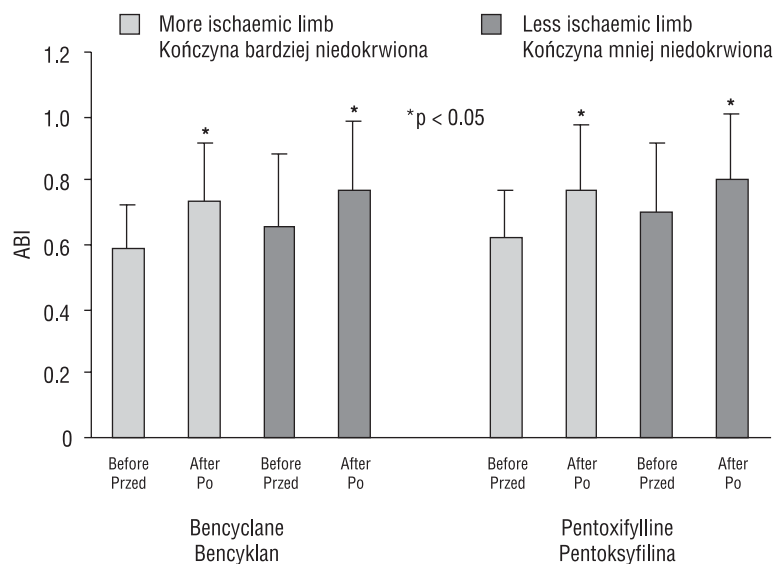


Figure 1. The influence of bencyclane and pentoxifylline on ankle-brachial index (ABI)

Rycina 1. Wpływ bencyklanu i pentoksyfiliny na wartość wskaźnika kostkowo-ramiennego (ABI)

Blood flow at rest in ml improved by 52% in the bencyclane group A (3.1 ± 1.6 vs. 4.7 ± 1.8) and by 36% in the pentoxifylline group B (2.2 ± 0.5 vs. 3.0 ± 0.6); however, in lil it improved by 25% in the bencyclane group (3.6 ± 1.0 vs. 4.5 ± 1.4) and by 30% in the pentoxifylline group (2.7 ± 0.3 vs. 3.5 ± 0.5) with the same statistical significance ($p < 0.01$) for both limbs and both groups (Figure 2).

Results of laboratory tests

Euglobulin clot lysis time (ECLT), which was the indication of plasma fibrinolytic activity, shortened significantly after *i.v.* infusion in both groups: in group A by 38% during the first and by 22% during the last day of therapy, in group B by 24% during the first and by 18% during the last day of therapy, with the same statistical significance ($p < 0.01$) for both groups. The main difference between bencyclane and pentoxifylline was that there maintained a statistically significant ($p < 0.05$) activity of plasma fibrinolytic system 12 hours after the last oral administration of bencyclane, while after oral administration of pentoxifylline no such effect was observed (Figure 3).

Spontaneous platelet aggregation expressed as PAR was inhibited in a highly statistically significant ($p < 0.001$) way in both groups with no statistically significant difference between them, and the effect also remained visible 12 hours after oral administration of both tested drugs (Figure 4).

ADP- and collagen-induced platelet aggregation was inhibited in both groups after 3 hours from *i.v.* infusion of the tested drugs; however, the effect remained statistically significant on the same level after 14 days in group A while there was no such effect in group B. On the first day

Wartość wskaźnika kostkowo-ramiennego (ABI) znacząco statystycznie ($p < 0,05$) zwiększyła się w kończynie bardziej niedokrwionej w grupie pacjentów stosujących bencyklan (lewa część ryciny 1) o 25% ($0,59 \pm 0,14$ vs. $0,74 \pm 0,18$) i o 16% w kończynie mniej niedokrwionej ($0,66 \pm 0,22$ vs. $0,77 \pm 0,21$); w grupie pacjentów stosujących pentoksyfilinę (prawa część ryciny 1) odpowiednio o 24% ($0,62 \pm 0,15$ vs. $0,77 \pm 0,2$) i o 14% ($0,7 \pm 0,22$ vs. $0,8 \pm 0,21$) przy tej samej znamienności statystycznej ($p < 0,05$).

Spoczynkowy przepływ krwi w kończynie bardziej niedokrwionej poprawił się o 52% w grupie pacjentów przyjmujących bencyklan ($3,1 \pm 1,6$ vs. $4,7 \pm 1,8$) i o 36% w grupie chorych stosujących pentoksyfilinę ($2,2 \pm 0,5$ vs. $3,0 \pm 0,6$), natomiast w kończynie mniej niedokrwionej o 25% w grupie przyjmujących bencyklan ($3,6 \pm 1,0$ vs. $4,5 \pm 1,4$) i o 30% w grupie leczonych pentoksyfiliną ($2,7 \pm 0,3$ vs. $3,5 \pm 0,5$) przy tej samej znamienności statystycznej ($p < 0,01$) dla obu kończyn i obu badanych grup (ryc. 2).

Wyniki badań laboratoryjnych

Czas lizy skrzepu euglobulinowego (ECLT), będący miarą aktywności fibrynolitycznej osocza, ulegał znacząco statystycznie skróceniu po podaniu *i.v.* w obu badanych grupach — o 38% (bencyklan) w 1. dniu i o 22% w ostatnim dniu terapii; o 24% (pentoksyfilina) w 1. dniu i o 18% w ostatnim dniu leczenia przy tej samej znamienności statystycznej ($p < 0,01$) dla obu badanych grup. Zasadnicza różnica między grupami chorych stosujących bencyklan i pentoksyfilinę polega na utrzymującej się znamiennej statystycznie ($p < 0,05$)

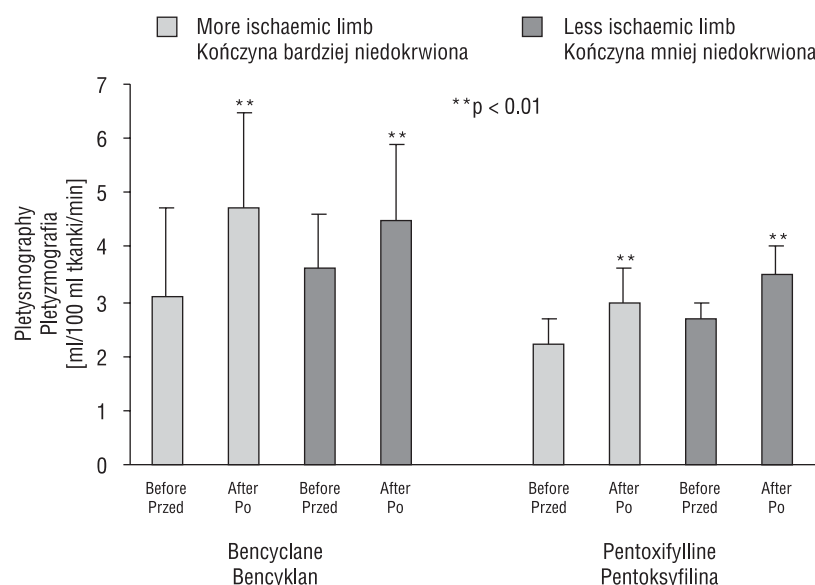


Figure 2. The influence of bencyclane and pentoxifylline on plethysmography

Rycina 2. Wpływ bencyklanu i pentoksyfiliny na pletyzmografię

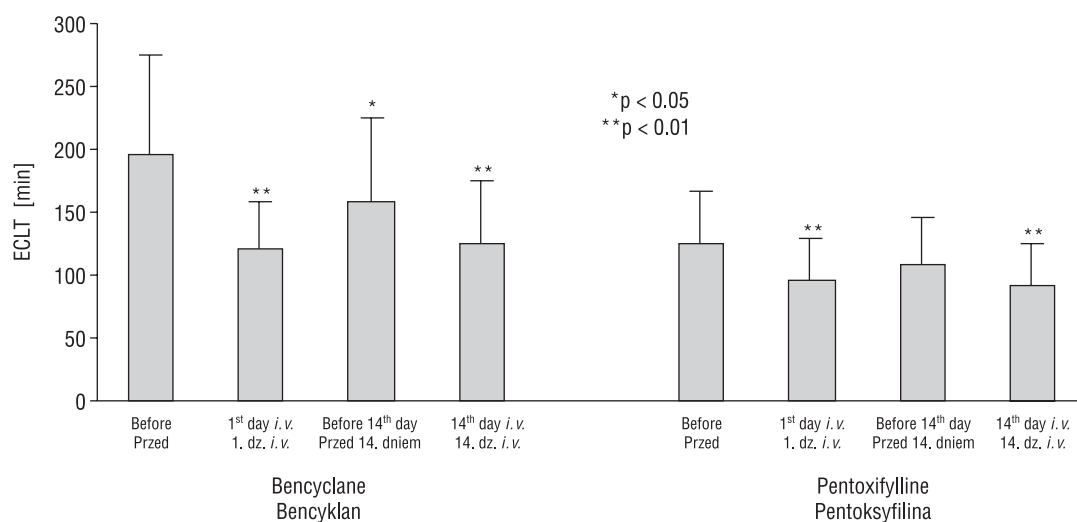


Figure 3. Influence of bencyclane and pentoxifylline on ECLT

Rycina 3. Wpływ bencyklanu i pentoksyfiliny na fibrynolizę

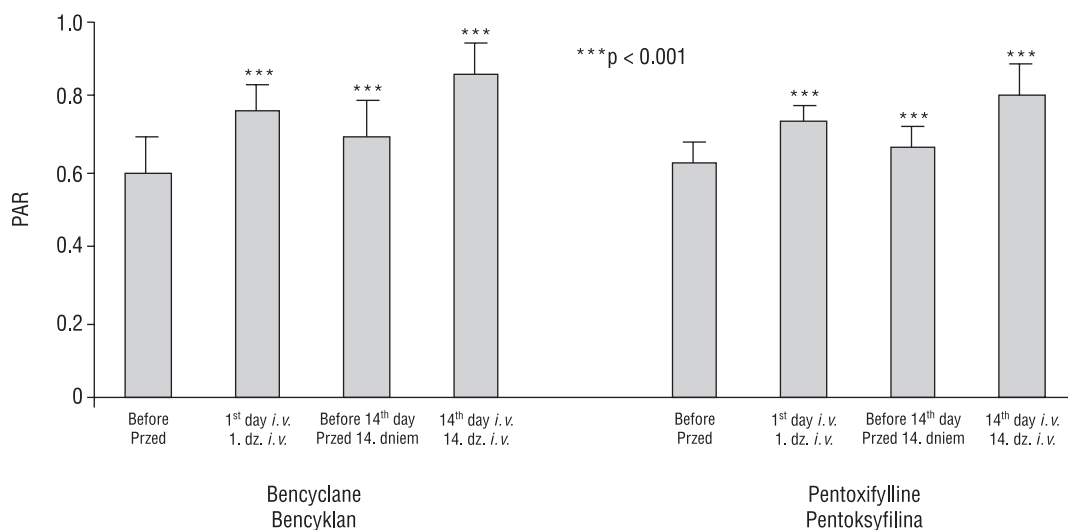
of therapy, bencyclane (*i.v.*) inhibited platelet aggregation by 50% and on the last day, by 95%, while pentoxifylline (*i.v.*) did this by 65% on both the first and the last days of therapy. Unlike pentoxifylline, the antiaggregatory effect of bencyclane is maintained for 12 hours since the last oral administration (by 41%) remaining on the same level of statistical significance ($p < 0.01$) (Figure 5, 6).

The deformability of erythrocytes increased by 5% on the first day of *i.v.* treatment in both groups on the same level of statistical significance ($p < 0.01$) and by 3% on day 14 in group A with a significance level of

aktywacji układu fibrynolitycznego osocza 12 godzin po ostatnim podaniu doustnym bencyklanu przy braku takiego efektu po doustnym podaniu pentoksyfiliny (ryc. 3).

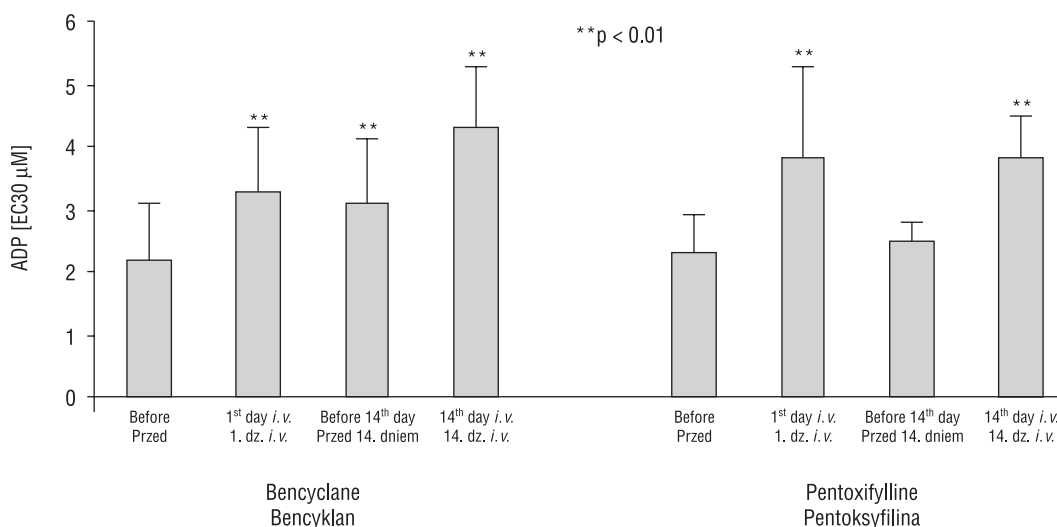
Spontaniczna agregacja płytek krwi wyrażona jako wskaźnik agregatów płytkowych (PAR) ulegała zahamowaniu w sposób wysoce statystycznie znamienny ($p < 0.001$) w obu badanych grupach, bez różnicy statystycznie znamiennej między nimi i utrzymywała się również 12 godzin po podaniu doustnym obu badanych leków (ryc. 4).

Agregacja płytek krwi wywołana ADP i kolagenem ulegała zahamowaniu w obu badanych grupach po 3 godz. in-



Rycina 4. Wpływ bencyclanu i pentoksyfiliny na PAR

Figure 4. Influence of bencyclane and pentoxifylline on PAR



Rycina 5. Wpływ bencyclanu i pentoksyfiliny na agregację płytek krwi indukowaną ADP

Figure 5. Influence of bencyclane and pentoxifylline on ADP-induced platelet aggregation

$p < 0.05$, while in group B it increased by 6% maintaining a significance level of $p < 0.01$.

The main difference in the effects of bencyclane vs. pentoxifylline on the erythrocyte deformability was that the effect of pentoxifylline remained stable (by 3% at $p < 0.05$) 12 hours after oral administration on the last day of treatment, while there was no such effect with bencyclane (Figure 7).

On the first day of *i.v.* treatment, erythrocyte aggregation was inhibited by 15% after *i.v.* infusion of the tested drug in patients from group A and by 9% in those from group B at the same level of statistical significance ($p < 0.05$). For group A, the effect increased to

fuzji leków, zachowując znamienność statystyczną na tym samym poziomie po upływie 14 dni w grupie pacjentów stosujących bencyklan przy braku tego efektu w grupie chorych przyjmujących pentoksyfilinę. Bencyklan (*i.v.*) w 1. dniu hamował agregację płytek krwi o 50% oraz o 95% w ostatnim dniu leczenia, podczas gdy pentoksyfilina (*i.v.*) odpowiednio: o 65% w 1. i w ostatnim dniu terapii. Efekt antyagregacyjny bencyclanu w odróżnieniu od leczenia pentoksyfiliną jest trwały i utrzymuje się przez 12 godzin po ostatnim podaniu doustnym (o 41%), pozostając na tym samym poziomie znamienności statystycznej ($p < 0,01$) (ryc. 5, 6).

Odształcalność krwinek czerwonych zwiększała się po podaniu *i.v.* w obu badanych grupach o 5% w pierw-

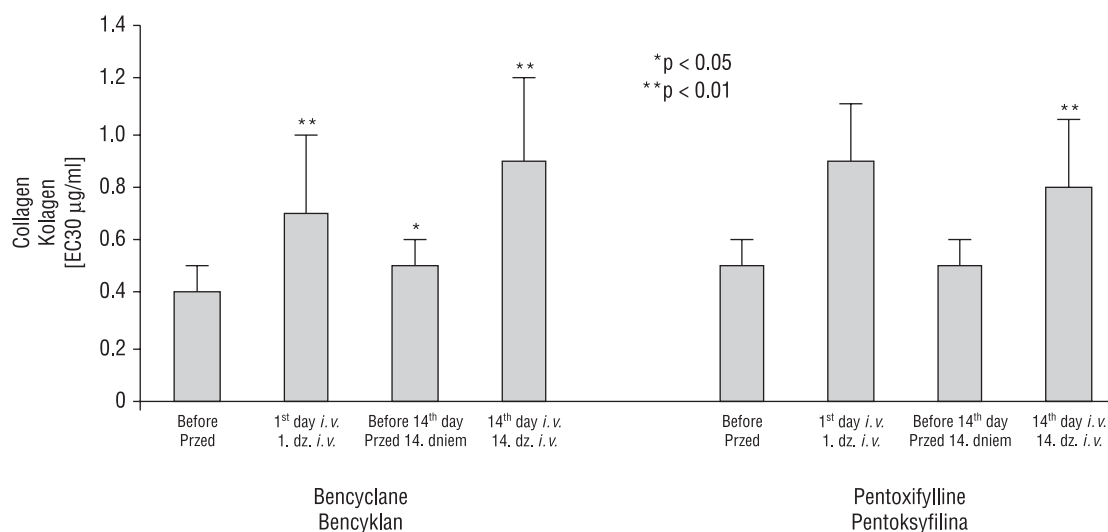


Figure 6. Influence of bencyclane and pentoxifylline on collagen-induced platelet aggregation

Rycina 6. Wpływ bencyklanu i pentoksyfiliny na agregację wywołaną kolagenem

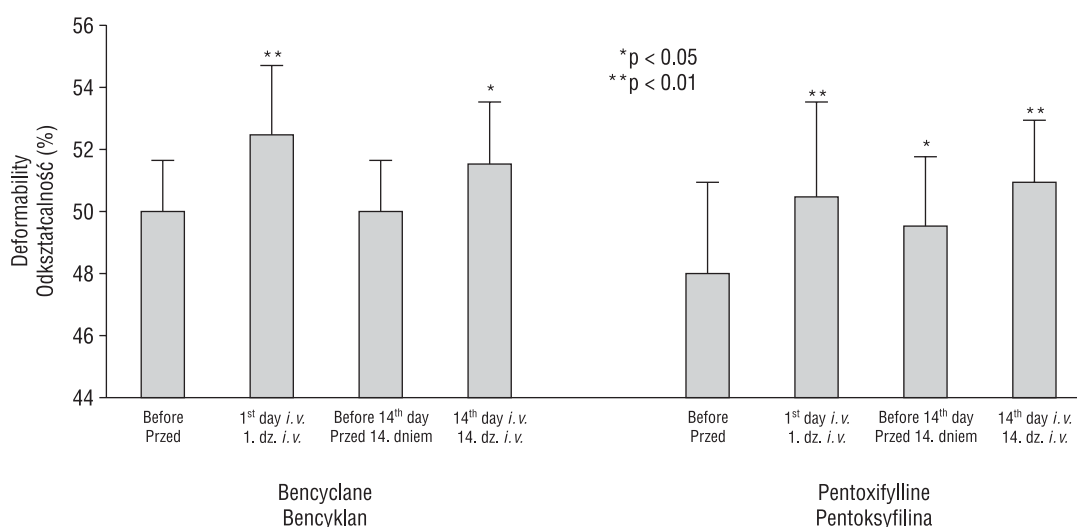


Figure 7. Influence of bencyclane and pentoxifylline on RBC deformability

Rycina 7. Wpływ bencyklanu i pentoksyfiliny na odkształcalność krwinek czerwonych

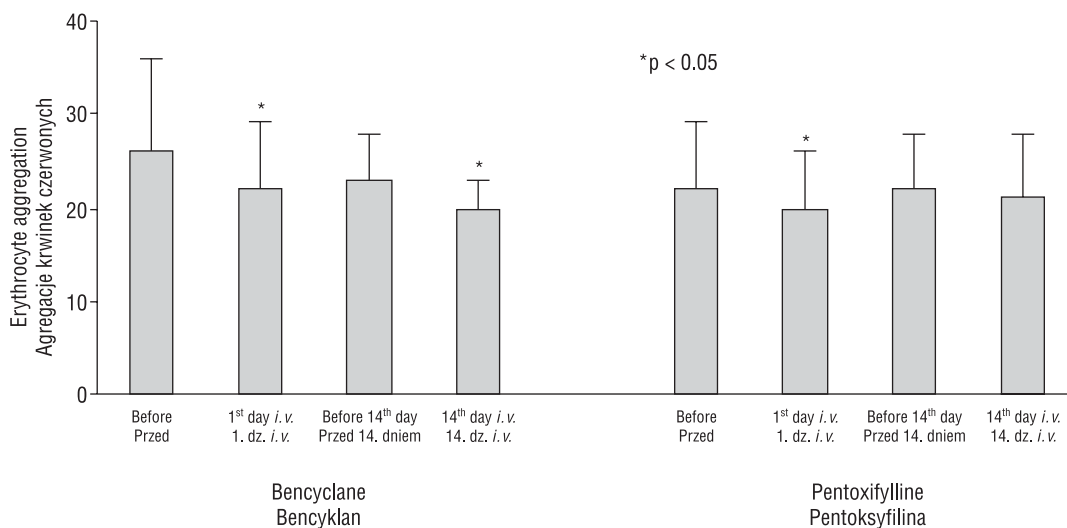
23% on the 14th day of treatment ($p < 0.05$) with no such increase in group B (Figure 8).

In 15 patients from group A and 7 from group B estimated t-PA, PAI-I and 6-keto PGF_{1α}, the tested levels of tissue plasminogen activator (t-PA) increased after i.v. treatment. For group A the change was 39% in the 1st day and 41% on the last day of treatment ($p < 0.01$). For group B, it was by 39% and 43% respectively with the same level of statistical significance ($p < 0.01$) (Figure 9).

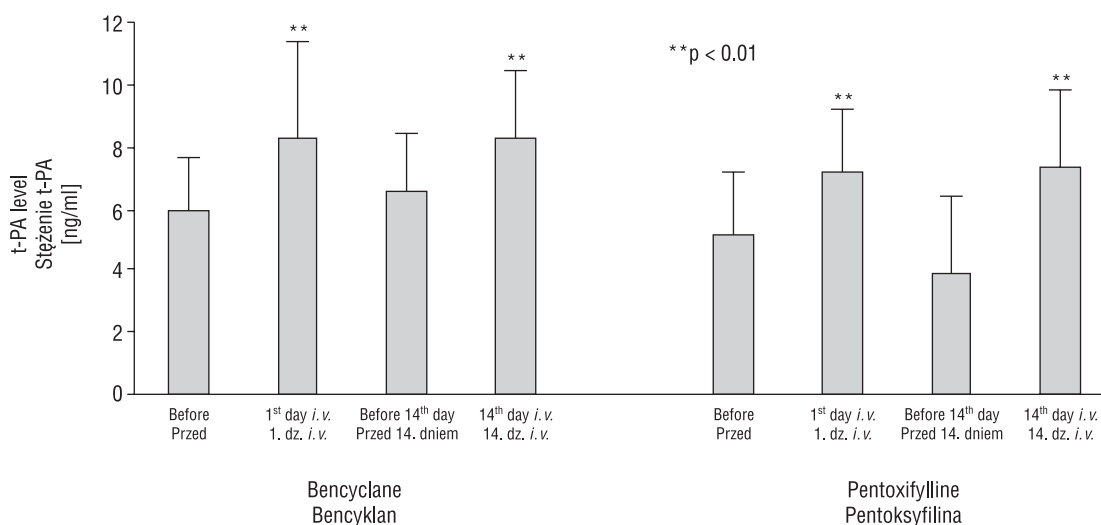
The level of PAI-I decreased by 34% ($p < 0.001$) in the first and by 28% ($p < 0.001$) on the last day of i.v. treatment in group A. In group B, the changes were 44% and 56% respectively but at a lower level of sta-

szym dniu terapii na tym samym poziomie znamienności ($p < 0.01$) oraz o 3% w 14. dniu w grupie pacjentów przyjmujących bencyklan ($p < 0.05$), podczas gdy dla grupy chorych leczonych pentoksyfiliną wzrastała o 6%, przy utrzymaniu znamienności statystycznej na poziomie $p < 0.01$. Zasadnicza różnica we wpływie bencyklanu i pentoksyfiliny na plastyczność krwinek czerwonych polega na efekcie pentoksyfiliny utrzymującym się 12 godzin po podaniu doustnym w ostatnim dniu leczenia przy braku takiego efektu w przypadku bencyklanu (ryc. 7).

Agregacja erytrocytów ulegała zahamowaniu o 15% u chorych stosujących bencyklan i o 9% w grupie chorych leczonych pentoksyfiliną, przy tym samym poziomie zna-



Rycina 8. Wpływ bencyclanu i pentoksyfiliny na agregację krwinek czerwonych
Figure 8. Influence of bencyclane and pentoxifylline on RBC aggregation; * $p < 0,05$



Rycina 9. Wpływ bencyclanu i pentoksyfiliny na t-PA
Figure 9. Influence of bencyclane and pentoxifylline on t-PA; ** $p < 0,01$

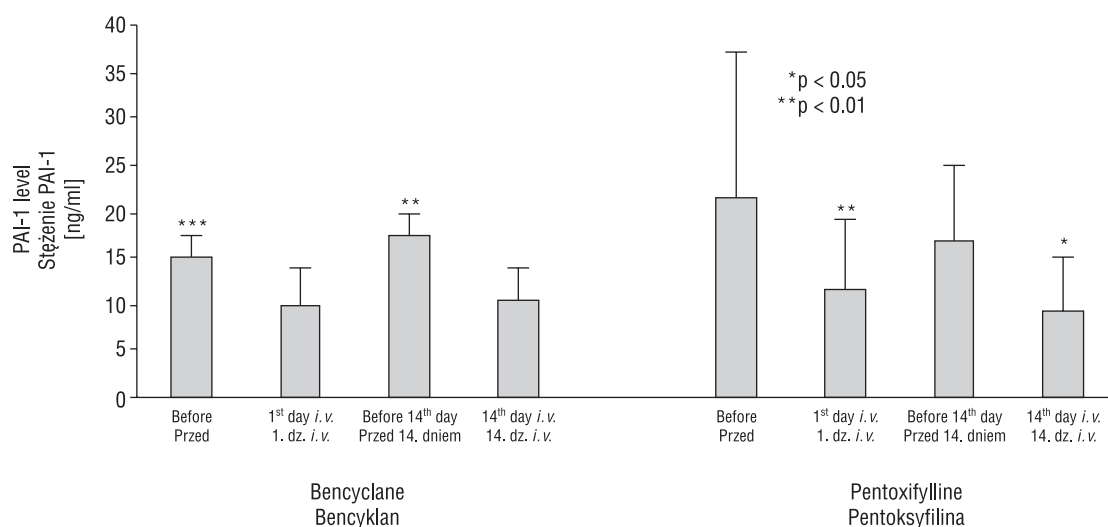
tistical significance ($p < 0.01$ on the first and $p < 0.05$ on the last day of therapy) (Figure 10).

The level of 6-keto $\text{PGF}_{1\alpha}$ as determined metabolite of prostacycline (PGI_2) increased after *i.v.* treatment in both tested groups; by 22% in group A during the first and by 16% during the last day of treatment ($p < 0.01$). In group B, the increases were 34% and 35% respectively, but with a lower level of statistical significance ($p < 0.05$) (Figure 11).

In both tested groups, changes in t-PA, PAI-I and 6-keto $\text{PGF}_{1\alpha}$ levels were short-term and appeared only upon *i.v.* infusion of both drugs waning on oral continuation of therapy.

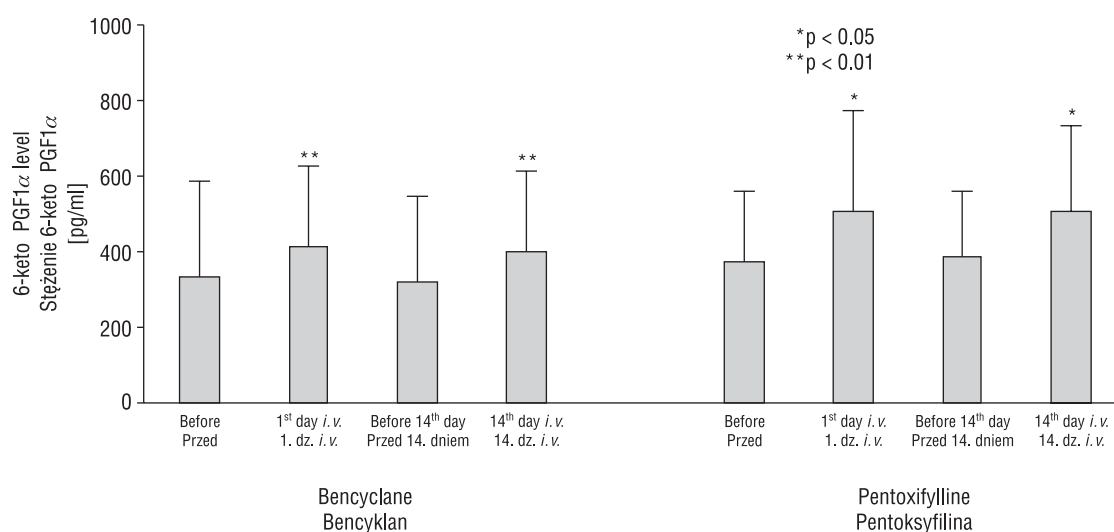
mienności ($p < 0,05$) w pierwszym dniu po dożylnych infuzjach badanych leków. W grupie chorych stosujących bencyklan wzrastała do 23% w 14. dniu leczenia ($p < 0,05$), podczas gdy efektu tego nie odnotowano w grupie pacjentów leczonych pentoksyfiliną (ryc. 8). U wszystkich badanych chorych w obu grupach stwierdzono wzrost aktywności fibrynolitycznej osocza, wyrażonej skróceniem czasu lizy skrzepu euglobulinowego (ECLT), ale tylko u 15 chorych w grupie osób przyjmujących bencyklan i u 7 chorych w grupie osób stosujących pentoksyfilinę oznaczano stężenie t-PA, PAI-I i 6-keto $\text{PGF}_{1\alpha}$.

Stężenie tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA) w grupie pacjentów przyjmujących bencyklan *i.v.*



Rycina 10. Wpływ bencyclanu i pentoksyfiliny na PAI-I

Figure 10. Influence of bencyclane and pentoxifylline on PAI-I; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$



Rycina 11. Wpływ bencyclanu i pentoksyfiliny na 6-keto $\text{PGF}_{1\alpha}$

Figure 11. Influence of bencyclane and pentoxifylline on 6-keto $\text{PGF}_{1\alpha}$

Discussion

The main purpose of PAOD treatment is the alleviation of ischaemic symptoms such as intermittent claudication and rest pain, as well as preventing disease progression that may lead to necrosis and limb amputation. PAOD treatment can also be treated as prophylaxis of other vascular complications, such as: ischaemic stroke, myocardial infarction and cardiovascular death.

Bencyclane exerts a favourable therapeutic effect in patients with peripheral vascular disease [1–5]; however, its mechanism of action has not been completely clarified. That is why we have decided to explain the mechanism of action of bencyclane paying particular

wzrosło o 39% w 1. dniu terapii i o 41% w ostatnim dniu ($p < 0,01$), a w grupie osób stosujących pentoksyfilinę *i.v.* odpowiednio: o 39% i 43% przy tym samym poziomie znamienności statystycznej ($p < 0,01$) (ryc. 9).

Stężenie inhibitora tkankowego aktywatora plazminogenu (PAI-I) u chorych z grupy chorych przyjmujących bencyclan *i.v.* zmniejszyło się o 34% ($p < 0,001$), w 1. dniu i o 28% w ostatnim dniu terapii ($p < 0,01$), natomiast w grupie pacjentów przyjmujących pentoksyfilinę *i.v.* odpowiednio: o 44% ($p < 0,01$) i 56% ($p < 0,05$) (ryc. 10).

Stężenie 6-keto $\text{PGF}_{1\alpha}$ jako oznaczalnego metabolitu prostacykliny (PGI_2) wykazywało wzrost w obu ba-

attention to the antiplatelet and fibrinolytic activity of the drug, on the basis of specific clinical and laboratory parameters.

As a control group we used patients receiving pentoxifylline — a drug of known efficacy in peripheral vascular disease and most widely recommended by TASC [14].

Pentoxifylline improves erythrocyte deformability, increasing their ability to pass into the microcirculation through capillaries narrower than their own diameter [18]. The ease of passing through microcirculation improves oxidization of ischaemic tissues. The efficacy of pentoxifylline was evaluated in double-blind, multicentre studies testing the drug's influence on the distance of intermittent claudication in groups treated with pentoxifylline or placebo. Most of these studies had shown statistically significant superiority of the drug in increasing pain-free walking distance [19–21]. Our own long-term observations on the use of pentoxifylline in patients with PAOD according to Fontaine II stage confirm the efficacy of pentoxifylline, especially in elongating pain-free distance and diminishing rest pain [22, 23]. These studies have also shown other favourable effects of pentoxifylline, such as inhibiting platelet aggregation and increasing plasma fibrinolytic activity. Also, results published in 2003 by Jawień et al. [24], show a statistically significant increase of pain-free walking distance after the administration of pentoxifylline, although there was no such significance observed for maximum walking distance even though it increased by 8.8%.

The results of basic laboratory tests (blood morphology, cholesterol and its fractions, glucose, AspAT, AlAT, urea, creatinine, fibrinogen) did not significantly differ between group A — receiving bencyclane and group B — receiving pentoxifylline, before and after a 14-day clinical trial. Both drugs were well tolerated. In no group were any adverse events observed.

In clinical tests encompassing pain-free and maximum walking distance, duration of pain in the ischaemic limbs after a walking test, ankle-brachial index and blood flow at rest we have observed significant improvement in both treated groups. The improvement was visible as increased pain-free and maximum walking distance, shortened duration of pain in the ischaemic limbs, increased ankle-brachial index and increased blood flow at rest. The increase of the ankle-brachial index in our study after 14-day therapy was observed in our earlier observations [25] after 7-day intravenous L-arginine therapy and in the results of other authors [26] after long-term simvastatin therapy.

At the same time, the results of laboratory tests in both groups differed with regard to antiplatelet (inhibi-

danych grupach — w grupie osób stosujących bencyklan *i.v.* o 22% w I. dniu i o 16% w ostatnim dniu terapii ($p < 0,01$), w grupie osób leczonych pentoksyfiliłą *i.v.* odpowiednio: o 34% i 35%, ale przy mniejszym poziomie znamienności statystycznej ($p < 0,05$) (ryc. 11).

W obu badanych grupach zmiany stężeń t-PA, PAI-1 i 6-keto PGF_{1 α} były krótkotrwałe i pojawiały się tylko przy podaniu dożylnym obu badanych leków, zanikając przy kontynuacji leczenia drogą doustną.

Dyskusja

Podstawowym celem leczenia PAOD jest złagodzenie objawów niedokrwienia w postaci chromania przestankowego i bólów spoczynkowych oraz zapobieganie postępowi choroby, która może doprowadzić do martwicy i amputacji kończyny. Leczenie tego schorzenia traktuje się również jako działanie zapobiegające występowaniu innych powikłań naczyniowych w postaci udaru mózgu, zawału serca i śmierci z powodu chorób układu sercowo-naczyniowego.

Bencyklan wywiera korzystny efekt terapeutyczny u pacjentów ze schorzeniami naczyń obwodowych [1–5], jednak mechanizmu jego działania do końca nie wyjaśniono. Celem niniejszej pracy była próba określenia mechanizmu funkcjonowania bency克兰u na podstawie wybranych parametrów badań klinicznych i laboratoryjnych u chorych na PAOD, ze szczególnym uwzględnieniem jego działania przeciwplatekowego i fibrynolitycznego.

Grupą porównawczą stanowili chorzy otrzymujący pentoksyfiliłę — lek uznany w zaleceniach TASC [14].

Pentoksyfiliła poprawia odkształcalność erytrocytów, zwiększając ich zdolność do przenikania przez węższe od nich kapilary do mikrokrążenia [18]. Łatwość przemieszczania się erytrocytów przez mikrokrążenie poprawia utlenowanie niedokrwionych tkanek. Skuteczność pentoksyfiliły oceniano w wielośrodkowych badaniach przeprowadzonych metodą podwójnie ślepej próby. Oceniano wpływ tego leku na dystans chromania przestankowego w grupach chorych leczonych pentoksyfiliłą lub placebo. W większości z tych badań wykazano statystycznie istotną przewagę pentoksyfiliły w zwiększeniu dystansu bezbólowego [19–21]. Wieloletnie obserwacje własne nad zastosowaniem pentoksyfiliły u chorych na PAOD w II i III stadium według klasyfikacji Fontaine'a potwierdzają opinię o skuteczności tego leku, szczególnie w wydłużeniu dystansu bezbólowego oraz zmniejszeniu bólu spoczynkowego [22, 23]. W badaniach tych wykazano także inne korzystne efekty terapii pentoksyfiliłą, takie jak hamowanie agregacji płytek krwi i zwiększenie aktywności układu fibrynolitycznego osocza. Również opublikowane w 2003 r.

ting spontaneous as well as ADP- and collagen-induced platelet aggregation) and fibrinolytic (ECLT shortening) effects and allowed us to evaluate the secretory function of the endothelium (increase of t-PA & 6-keto PGF_{1α} levels and decrease of PAI-I level). Bencyclane given by i.v., as well as pentoxifylline, statistically significantly shortens the euglobulin clot lysis time. The activation of the plasma fibrinolytic system was maintained even 12 hours after the last oral administration of the drug, while no such effect was observed after the administration of pentoxifylline. ADP- and collagen-induced platelet aggregation was inhibited after an i.v. infusion of both drugs, but stable antiaggregatory effects that were visible even 12 hours after finishing the 14-day long therapy with the last oral dose could be seen only in the group of bencyclane recipients.

Both drugs also had different effects on erythrocyte deformability. The effects of pentoxifylline remained 12 hours after the last oral administration on the last day of treatment while there was no such effect for bencyclane.

Both drugs, after i.v. administration, similarly, significantly inhibited erythrocyte aggregation on the first day after infusion; however, only bencyclane did this on the 14th day of treatment.

The effect of both drugs on the levels of PAI-I, t-PA and 6-keto PGF_{1α} could be seen only after i.v. administration. Bencyclane, as well as pentoxifylline, statistically significantly lowered plasma concentrations of PAI-I, while at the same time increasing levels of t-PA and 6-keto PGF_{1α} only after i.v. infusion on the first as well as on the last (14th) day of treatment, with no effect on oral administration. Possibly, during prolonged administration of the tested drugs, their effect on the secretory function of the endothelium would also be seen with oral administration. Despite limitations resulting from the small number of patients, we have observed statistically significant differences for most of the evaluated parameters, even in such a limited sample and short observation time (14 days of therapy).

Our results show that bencyclane, in comparison with pentoxifylline, shows stronger antiplatelet (considering spontaneous as well as ADP- and collagen-induced platelet aggregation), fibrinolytic and inhibiting erythrocyte aggregation activity with similar vasodilating effects and a weaker influence on erythrocyte deformability. These effects of bencyclane may stem from activation of the vascular endothelium for the synthesis and release of mediators of endothelial secretory functions, such as: prostacycline (PGI₂), nitric oxide (NO) and tissue plasminogen activator (t-PA). These main endothelial mediators act in mutual feedback and regula-

wyniki badań Jawienia i wsp. [24] wykazały znamieny statystycznie wzrost dystansu bezbólowego po zastosowaniu pentoksyfiliny przy braku znamienności dla dystansu maksymalnego.

Wyniki podstawowych badań laboratoryjnych (morfologia krwi, stężenie cholesterolu i jego frakcji, stężenie glukozy, Aspat, Alat, stężenie mocznika, kreatyniny, fibrynogenu) w grupie A (pacjenci stosujący bencyklan) i w grupie B (osoby leczone pentoksyfiliną) nie wykazywały istotnych różnic przed 14-dniową próbą kliniczną i po jej zakończeniu. Oba leki były dobrze tolerowane. W żadnej z grup nie obserwowano występowania działań niepożądanych.

W badaniach klinicznych (obejmujących ocenę dystansu bezbólowego i maksymalnego chromania przestankowego, czasu trwania bólu w niedokrwionych kończynach po próbie marszowej, wartości ABI oraz spoczynkowego przepływu krwi) obserwowano znamienne poprawę w obu grupach wyrażoną wydłużeniem bezbólowego i maksymalnego dystansu chromania przestankowego, skróceniem czasu trwania bólu w niedokrwionych kończynach, wzrostem wartości ABI i spoczynkowego przepływu krwi. Stwierdzony wzrost wartości ABI po upływie 14-dniowej terapii potwierdza wyniki wcześniejszych obserwacji [25] uzyskane po 7-dniowej dożylniej terapii argininą oraz wyniki podane przez innych autorów [26] po upływie dłuższego czasu leczenia przy długotrwałym stosowaniu simwastatyny.

Natomiast w badaniach laboratoryjnych w obu badanych grupach wykazano zróżnicowanie działania przeciwplateletowego (hamowanie samoistnej agregacji płytek krwi oraz agregacji indukowanej czynnikami proagregacyjnymi: ADP i kolagenem) oraz fibrynolitycznego (skrócenie ECLT), co pozwoliło ocenić funkcję wydzielniczą śródbłonna (zwiększenie stężeń t-PA i 6-keto PGF_{1α}, zmniejszenie stężenia PAI-I). Bencyklan podany dożylnie, podobnie jak pentoksyfilina, w sposób statystycznie znamieny powodował skrócenie czasu lizy skrzepu euglobulinowego. Aktywacja układu fibrynolitycznego osoba utrzymywała się jeszcze przez 12 godzin po ostatnim doustnym podaniu leku, czego nie obserwowano po doustnym podaniu pentoksyfiliny. Agregacja płytek krwi wywołana ADP i kolagenem ulegała zahamowaniu po infuzji dożylniej obu badanych leków, ale trwały efekt antyagregacyjny utrzymujący się po zakończeniu 14-dniowej terapii w 12 godzin po podaniu doustnym utrzymywał się tylko w grupie chorych otrzymujących bencyklan.

Również odmiennie oba leki wpływały na odkształcalność krwinek czerwonych. Efekt pentoksyfiliny utrzymywał się przez 12 godzin po doustnym podaniu w ostatnim dniu leczenia przy braku takiego działania w przypadku bencyklanu.

tion, with the main points of action being distributed as follows:

- prostacycline through strongest antiplatelet activity is responsible for thromboresistance of the vascular wall NO — for tonus of smooth muscles of the vascular wall and t-PA for fibrinolysis;
- intact vascular endothelium releases PGI_2 and NO [27] in conjugated fashion, which by simultaneously appearing in the target cell increase intracellular levels of: cyclic 3',5' adenosine monophosphate (c-AMP) and cyclic 3',5' guanosine monophosphate (c-GMP) respectively and exert their pharmacological activity by these secondary messengers;
- the increase of t-PA levels is done by two pathways: through PGI_2 which stimulates endothelial cells to release pro-fibrinolytic t-PA [28, 29] and through NO, which inhibits the release of anti-fibrinolytic inhibitors of plasminogen activator (PAI-I) from the activated platelets [30, 31].

In atherosclerosis, there is a deficit of PGI_2 [32–34] as well as NO [35–37], which is why platelet activation increases, plasma fibrinolytic activity diminishes [38–40] and there is homeostasis disturbance, leading to: a predominance of vasoconstrictors and substances activating intravascular clotting, proliferation of cells in the vessel wall and the formation of free oxygen radicals, with all the unfavourable consequences for the organism, mainly thromboembolic complications. Consequently, using drugs that increase the synthesis and release of endothelial secretory function mediators in the treatment of atherosclerosis has the features of substitution therapy and may improve endothelial function and prevent dangerous complications of this disease.

Favourable features of bencyclane shown in our work (long-term antiplatelet, antiaggregatory and fibrinolytic action maintained on continuing oral therapy) make it a drug ideally suited to the treatment of peripheral vascular diseases as well as in prophylaxis and therapy of cardiovascular thromboembolic complications.

Our work is another step in explaining the favourable effects of bencyclane on peripheral circulation observed in earlier studies [1–5].

Conclusions

The obtained results, i.e. inhibition of spontaneous as well as ADP- and collagen-induced platelet aggregation, increase of plasma fibrinolytic activity, lowering of PAI-I level and rising concentrations of t-PA and 6-keto $\text{PGF}_{1\alpha}$ may suggest that bencyclane's mechanism of action is endothelial-derived.

To support this hypothesis, further studies on larger groups of patients are needed.

Oba leki jednakowo znamienne po podaniu dożylnym powodowały zahamowanie agregacji erytrocytów w 1. dniu po infuzji, natomiast tylko bencyklan hamował ten ostatni proces w 14. dniu leczenia.

Wpływ obu badanych leków na stężenia PAI-I, t-PA i 6-keto $\text{PGF}_{1\alpha}$ zaznaczał się tylko po ich dożylnym podaniu. Zarówno bencyklan, jak i pentoksyfilina, zmniejszały w sposób statystycznie znamieny osoczowe stężenie PAI-I oraz zwiększały stężenie t-PA i 6-keto $\text{PGF}_{1\alpha}$ tylko po dożylnej infuzji obu leków zarówno w 1., jak i w 14. dniu terapii przy braku efektu po podaniu doustnym. Być może dłuższe zastosowanie badanych leków wpłynęłoby na funkcję wydzielniczą śródbłónki po ich podaniu doustnym. Mimo ograniczeń wynikających z małej liczby pacjentów obserwowano zmienności statystycznie istotne dla większości ocenianych parametrów, nawet przy tak niewielkiej próbie i krótkotrwałej obserwacji (14 dni terapii).

Uzyskane wyniki świadczą, że bencyklan w porównaniu z pentoksyfiną wykazuje silniejsze działanie przeciwplatetkowe — zarówno w zakresie hamowania agregacji samoistnej, jak i wywołanej czynnikami proagregacyjnymi (ADP i kolagenem); działanie hamujące agregację krwinek czerwonych i fibrynolityczne przy podobnym działaniu naczyniorozszerzającym, natomiast w mniejszym stopniu wpływa na odkształcalność krwinek czerwonych. Wymienione działania bencyklanu mogą być spowodowane aktywacją śródbłónki naczyniowego do syntezy i uwolnienia mediatorów funkcji wydzielniczej śródbłónki, a mianowicie prostacykliny (PGI_2), tlenku azotu (NO) i tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA). Działanie tych głównych śródbłonkowych przekazników odbywa się we wzajemnym sprzężeniu i regulacji z następującym rozłożeniem akcentów głównego działania:

- prostacyklina poprzez najsilniejsze działanie przeciwplatetkowe odpowiada za tromborezystencję ściany naczyń, NO za stan napięcia mięśni gładkich naczyń krwionośnych, a t-PA za działanie fibrynolityczne; nieuszkodzony śródbłonek naczyniowy uwalnia w sposób sprzężony PGI_2 i NO [27], które, pojawiając się w docelowej komórce, jednocześnie zwiększają wewnątrzkomórkowe stężenie odpowiednio: cyklicznego 3',5' monofosforanu adenozy (c-AMP), oraz cyklicznego 3',5' monofosforanu guanozy (c-GMP) i poprzez te wtórne przekazniki wywierają swoje działanie farmakologiczne;
- zwiększenie stężenia t-PA dokonuje się dwójako: poprzez PGI_2 , która pobudza komórki śródbłónki do uwolnienia profibrynolitycznego t-PA [28, 29], oraz poprzez NO, który hamuje uwolnienie z aktywowanych płytek krwi antyfibrynolitycznego inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI-I) [30, 31].

References

- Cencora A, Jarosz Z, Gawlik A, Nowak K (1978) Halidor stosowany dotętniczo w miażdżycy zarostowej kończyn dolnych. *Pro Memoria*, 16: 27–31.
- Cencora A (1980) Halidor w leczeniu choroby i zespołu Raynauda. *Pro Memoria*, 19: 21–25.
- Cencora A (2004) Can everyday walking replace treadmill training in patients with claudication? Do Bencyclane fumarate or Xantinel nicotinate affect the results of such treatment? Open, randomized, prospective, comparative, one center-based study. *Acta Angiol*, 10: 77–89.
- Grodzińska L, Basista M, Dembińska-Kieć A, Kostka-Trąbka E (1989) Halidor (Bencyclan) w leczeniu zarostowego stwardnienia tętnic kończyn dolnych (stadium I i II). *Pro Memoria*, 23: 23–28.
- Trübestein G, Trübestein R, Ludwig M (1989) Bencyclan bei arterieller Verschlusskrankheit im Stadium II. Ergebnisse einer kontrollierten Studie. *Fortschr d Med*, 107: 781–784.
- Szekeres L (1970) Die hämodynamische Wirkung von Bencyclan. *Arzneim Forsch*, 20: 1362–1367.
- Solti F (1970) Die Wirkung von Bencyclan auf die Blutdurchströmung der Extremitäten. *Arzneim Forsch*, 20: 1358–1360.
- Fleckenstein A, Grün G, Tritthart H, Byon K, Harding P (1971) Uterus-Relaxation durch hochactive Ca^{++} -antagonistische Hemmstoffe der elektro-mechanischen Koppelung wie Isoptin (Verapamil, Iproveratril), Substanz D 600 und Segontin (Prenylamin). Versuche am isolierten Uterus virgineller Ratten. *Klin Wschr*, 49: 32–41.
- Brandt H, Schanzenbächer P, Enzenross HG, Betz E (1975) Die Auswirkungen erhöhter Kalziumkonzentrationem im künstlichen Liquor cerebrospinalis auf die Piagefäßweite bei perivaskulärer Mikroperfusion und die Hemmwirkung durch Bencyclan. *Arzneim-Forsch*, 25: 1393–1396.
- Nanasi PP, Varro A, Rablaczky G, Danko M (1987) Use-dependent blockade of sodium channels induced by bencyclane in frog skeletal muscle and canine cardiac Purkinje fiber. *Arch Intnt Pharmacodyn Ther*, 290: 278–287.
- Nanasi PP, Bodnar Z, Danko M (1989) Effects of bencyclane on normal and cevadine-modified Na channels in frog skeletal muscle. *Gen Physiol Biophys*, 8: 447–458.
- Kukovetz WR, Pösch G, Holzmann S, Paietta E (1975) Zum Wirkungsmechanismus von Bencyclan an der glatten Muskulatur. *Arzneim-Forsch*, 25: 722–726.
- Wolski A, Terlecki P, Przywara S et al (2004) Ocena efektów leczenia przewlekłego niedokrwienia kończyn dolnych bencyklanem i pentoksyfilią. *Chirurgia Polska*, 6: suppl A.
- Management of Peripheral Arterial Disease (PAD) (2000) TransAtlantic Inter-Society Consensus (TASC). Pharmacotherapy for Symptoms of Intermittent Claudication. *J Vasc Surg*, 31: 89–96.
- Kaulla von KN, Schultz RL (1958) Methods for evaluation of human fibrinolysis. *Am J Clin Pathol*, 29: 104–112.
- Wu KK, Hoak JC (1974) A new method for the quantitative detection of platelet aggregates in patients with arterial insufficiency. *Lancet*, 2: 924–926.
- Born GVR (1962) Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*, 194: 927–929.
- U chorych na miażdżycę stwierdza się deficyt zarówno PGI_2 [32–34], jak i NO [35–37] i dlatego występuje wzmożona aktywacja płytek krwi, osłabienie potencjału fibrynolitycznego osocza [38–40], zaburzenie równowagi w kierunku przewagi substancji naczyniozwiązujących, aktywujących procesy wykrzepiania, proliferacji komórek w ścianie naczynia i tworzenia wolnych rodników tlenowych ze wszystkimi niekorzystnymi dla ustroju konsekwencjami, głównie powikłaniami zakrzepowo-zatorowymi. Dlatego stosowanie w tym schorzeniu leków nasilających syntezę i uwolnienie mediatorów funkcji wydzielniczej śródbłonna, mając cechy terapii substytucyjnej, może poprawiać dysfunkcję śródbłonna i zapobiegać groźnym powikłaniom miażdżycy.
- Wykazane w niniejszej pracy korzystne cechy bencyklanu (długotrwałe działania przeciwplatekowe, antyagregacyjne w stosunku do krwinek czerwonych i fibrynolityczne utrzymujące się przy kontynuowaniu terapii drogą doustną), czynią go lekiem w pełni przydatnym w terapii pacjentów z chorobami naczyń obwodowych oraz w profilaktyce i leczeniu chorych z powikłaniami zakrzepowo-zatorowymi układu sercowo-naczyniowego.
- Przeprowadzone badanie pozwoliło przybliżyć wyjaśnienie korzystnego wpływu bencyklanu na krążenie obwodowe obserwowane we wcześniejszych badaniach [1–5].

Wnioski

Zahamowanie samoistnej oraz wywołanej ADP i kolagenem agregacji płytek krwi, wzrost aktywności fibrynolitycznej osocza, zmniejszenie stężenia PAI-I oraz wzrost stężenia t-PA i 6-keto $\text{PGF}_{1\alpha}$ mogą sugerować śródbłonkowopochodny mechanizm działania bencyklanu. Jednak w celu potwierdzenia tego spostrzeżenia należy przeprowadzić dalsze badania u większej liczby chorych.

Powyższe efekty w połączeniu z naczyniorozszerzającym działaniem bencyklanu pozwalają zaliczyć bencyklan do grupy leków szczególnie cennych w terapii przewlekłego niedokrwienia kończyn dolnych na tle miażdżycy oraz w profilaktyce miażdżycowych powikłań zakrzepowo-zatorowych.

- Aviado DM, Dettelbach HR (1984) Pharmacology of pentoxifylline a hemorrheologic agent for the treatment of intermittent claudication. *Angiology*, 35: 407–417.
- Hood SC, Moher D, Barber GG (1996) Management of intermittent claudication with pentoxifylline; meta-analysis of randomized controlled trials. *CMAJ*, 155: 1053–1059.
- Porter JM, Cutler BS, Lee BY et al (1982) Pentoxifylline efficacy in the treatment of intermittent claudication: multicenter controlled double-blind trial with objective assessment of chronic occlusive arterial disease patients. *Am Heart J*, 104: 66–72.

21. Lindgarde F, Jelnes R, Bjorkman K et al (1989) Conservative drug treatment in patients with moderately severe chronic occlusive peripheral arterial disease. *Circulation*, 80: 1549–1556.
22. Kostka-Trąbka E, Dembińska-Kieć A, Grodzińska L et al (1983) Pentoxifylline (Trental) in the treatment of arteriosclerosis obliterans. *Zbl Phar*, 122: 763–765.
23. Kostka-Trąbka E, Dembińska-Kieć A, Grodzińska L, Bieroń K, Gryglewski RJ (1985) Beneficial results of pentoxifylline (Trental) therapy in arteriosclerosis obliterans: possible mechanism of action. *Curr Med Res Opin*, 9: 407–415.
24. Jawień A, Grzela T, Ciecierski M, Piotrowicz R, Szotkiewicz A, Migdalski A (2003) Buflomedil associated with pentoxifylline in the treatment of patients with intermittent claudication. Opened, randomised, one-centre-based study. *Acta Angiol*, 9: 109–122.
25. Gryglewski RJ, Grodzińska L, Kostka-Trąbka E et al (1996) The treatment with L-arginine is likely to stimulate generation of nitric oxide in patients with peripheral arterial obstructive disease. *Wiener Klin Woch Schr*, 108: 111–116.
26. Mondillo S, Balla P, Barbati R et al (2003) Effect of simvastatin on walking performance and symptoms of intermittent claudication in hypercholesterolemic patients with peripheral vascular disease. *Am J Med*, 114: 359–364.
27. De Nucci G, Gryglewski RJ, Warner TD, Vane JR (1988) Receptor-mediated release of endothelium-derived relaxing factor (EDRF) and prostacyclin from bovine aortic endothelial cells is coupled. *Proc Natl Acad Sci*, 85: 2334–2338.
28. Szczeklik A, Kopeć M, Sładek K (1983) Prostacyclin and the fibrinolytic system in ischaemic vascular disease. *Thromb Res*, 29: 655–660.
29. Musiał J, Wilczyńska M., Sładek K, Cierniawski CS, Niżankowski R, Szczeklik A (1986) Fibrinolytic activity of prostacyclin and iloprost in patients with peripheral arterial disease. *Prostaglandins*, 31: 61–70.
30. Korbut R, Lidbury PS, Vane JR (1990) Prolongation of fibrinolytic activity of tissue plasminogen activator by nitrovasodilators. *Lancet*, 335: 669.
31. Lidbury PS, Korbut R, Vane JR (1990) Sodium nitropruside modulates the fibrinolytic system in the rabbit. *Br J Pharmacol*, 101: 527–530.
32. Dembińska-Kieć A, Gryglewska T, Żmuda A, Gryglewski RJ (1977) The generation of prostacyclin by arteries and by vascular bed is reduced in experimental atherosclerosis in rabbits. *Prostaglandins*, 14: 1025–1035.
33. Gryglewski RJ, Dembińska-Kieć A, Żmuda A, Gryglewska T (1978) Prostacyclin and thromboxane A₂ biosynthesis capacities of heart, arteries and platelets of various stages of experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 31: 385–394.
34. D'Angelo V, Mysliwiec M, Donati MB, De Gaetano G (1978) Defective fibrinolytic and prostacyclin-like activity in human atheromatous plaque. *Tromb Haemostas*, 39: 535–536.
35. Försterman U, Mugge A, Alheid U, Haverich A, Frölich JC (1988) Selective attenuation of endothelium-mediated vasodilation in atherosclerotic human coronary arteries. *Circ Res*, 62: 185–190.
36. Gryglewski RJ (1990) Nitric oxide and atherosclerosis. *Thromb Haemorrh Disorders*, 2/1: 1–9.
37. Chester AH, O'Neil GS, Moncada S, Yacoub MH (1990) Low basal and stimulated release of nitric oxide in atherosclerotic epicardial coronary arteries. *Lancet*, 336: 897–900.
38. Dembińska-Kieć A, Kostka-Trąbka E, Gryglewski RJ (1982) Effect of prostacyclin on fibrinolytic activity in patients with arteriosclerosis obliterans. *Thromb Haemostas*, 47: 190.
39. Dembińska-Kieć A, Kostka-Trąbka E, Żmuda A et al (1982) Effect of prostacyclin (PGI₂) on platelets and fibrinolytic activity in patients with arteriosclerosis obliterans. *Pharm Res Commun*, 14: 485–498.
40. Korbut R, Żmuda A, Basista M, Gryglewski RJ (1986) Eicosanoids balance at early stage of experimental atherosclerosis: its relationship with plasma fibrinolytic activity and platelet aggregation. *Agents Actions*, 20: 225.